

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
15. Februar 2001 (15.02.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/11039 A2**

(51) Internationale Patentklassifikation?: CI2N 15/12, C07K 14/705, C12Q 1/68 (74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/02648

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(22) Internationales Anmeldedatum:  
4. August 2000 (04.08.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
199 38 390.1 5. August 1999 (05.08.1999) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN [DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): WALLUKAT, Gerd [DE/DE]; Wolkensteinstrasse 4, D-13129 Berlin (DE). PODLOWSKI, Svenja [DE/DE]; Wilhelmstrasse 31, D-15831 Mahlow (DE). WENZEL, Katrin [DE/DE]; Fröbelweg 23, D-16321 Schönow (DE). MÜLLER, Johannes [DE/DE]; Güntzelstrasse 63, D-10717 Berlin (DE).

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— Ohne internationalem Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

Zur Erklärung der Zwei-Buchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

WO 01/11039 A2

(54) Title: NEW SEQUENCE VARIANTS OF THE HUMAN  $\beta$ 1-ADRENORECEPTOR GENES AND USE THEREOF

(54) Bezeichnung: NEUE SEQUENZVARIANTEN DES MENSCHLICHEN  $\beta$ 1-ADRENOZEPTORGENS UND IHRE VERWENDUNG

(57) Abstract: The invention relates to new sequence variants of the human  $\beta$ 1-adrenoreceptor genes and to the use of polymorphisms in the human  $\beta$ 1-adrenoreceptor gene for diagnosing cardiomyopathies.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft neue Sequenzvarianten des menschlichen  $\beta$ 1-Adrenozeptorgens und die Verwendung von Polymorphismen im menschlichen  $\beta$ 1-Adrenozeptor zur Diagnose von Cardiomyopathien.

## Neue Sequenzvarianten des menschlichen $\beta$ 1-Adrenozeptorgens und ihre Verwendung

Die Erfindung betrifft neue Sequenzvarianten des menschlichen  $\beta$ 1-Adrenozeptorgens und die Verwendung von Polymorphismen im menschlichen  $\beta$ 1-Adrenozeptogen zur Diagnose von Cardiomyopathien.

Cardiomyopathien sind Erkrankungen des Herzmuskels, die nicht als Folge arteriosklerotischer Gefäßerkrankungen, Widerstandserhöhungen im kleinen oder großen Kreislauf sowie von Herzfehlern aufzufassen sind. Insbesondere die dilatative Cardiomyopathie (DCM), eine Cardiomyopathie unbekannter Ursache, ist eine Krankheit, die durch eine linke ventrikuläre Disfunktion verbunden mit beeinträchtigter Funktion des  $\beta$ -adrenergen Rezeptors gekennzeichnet ist. Es wird allgemein vorausgesetzt, daß ein adrenergener Overdrive eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung einer DCM spielt (Francis GS et al, The neuronal humoral axis in congestive heart failure, *Ann Inter Med* 1984; 101:370-377). Solch erhöhter adrenergener Overdrive führt zu einer Fehlregulierung der  $\beta$ 1-Adrenozeptor gesteuerten Signalübertragung (Bristow MR et al,  $\beta$ 1- and  $\beta$ 2-adrenic-receptor-subtypes in non-failing and failing ventricular myocardium: coupling of both receptor subtypes to muscle contracting and selective  $\beta$ 1-receptor down-regulation in heart failure. *Circ Res* 1986; 59:297-309). Der menschliche  $\beta$ 1-Adrenozeptor spielt somit eine wichtige Rolle in der Regulation von Funktionen des Herzens. Die Gründe, die zu einer DCM führen, sind jedoch noch unbekannt.

Der Erfindung lag deshalb die Aufgabe zugrunde, Varianten, Polymorphismen, Mutationen und resultierende Haplotypen in der DNA-Sequenz des menschlichen  $\beta$ 1-Adrenozeptorgens zu ermitteln und deren Korrelationen mit Krankheitsdispositionen festzustellen. Ausgehend von diesen Korrelationen soll ein Verfahren zur Diagnose dieser Krankheitsdispositionen sowie ein System zur Therapeutika-Entwicklung für diese Krankheiten entwickelt werden.

Die Aufgabe wird gemäß den Ansprüchen gelöst, die Unteransprüche sind Vorzugsvarianten.

Es wurde gefunden, daß in der 5'-regulierenden Region der Sequenz des menschlichen  $\beta$ 1-Adrenozeptorgens in der kodierenden Region mindestens bis zu sieben Mutationen vorhanden sind sowie weitere stumme Mutationen existieren. Es wurde ferner gefunden, daß insbesondere drei dieser genetischen Varianten in der kodierenden Region mit der

Disposition für Cardiomyopathien, insbesondere der DCM korrelieren. Vorzugsweise korrelieren zwei Mutationen im N-terminalen Bereich des Gens mit einer DCM.

Gegenstand der Erfindung sind danach Sequenzen des menschlichen  $\beta$ 1-Adrenozeptorgens, die an einer bis mindestens sieben Positionen ganz oder teilweise mutiert sind, wobei sich mindestens bis zu zwei Mutationen am N-terminalen Ende befinden und mindestens bis zu fünf am C-terminalen Ende lokalisiert sind.

Es handelt sich erfindungsgemäß insbesondere um eine Sequenz, die ganz oder teilweise die Mutationen A→G (Position 145, Ser49Gly), G→T (Position 175, Ala59Ser), G→C (Position 1165, Gly389Arg), C→T (Position 1195, Arg399Cys), A→G (Position 1205, His402Arg), A→G (Position 1210, Thr404Ala) und C→G (Position 1252, Pro418Ala) enthält, ausgenommen die Sequenz mit der bereits bekannten Mutation A→G (Position 145) oder G→C (Position 1165), Maqbool A et al., Common polymorphisms of  $\beta$ 1-adrenoreceptor: identification and rapid screening assay. Lancet 1999;353:897.

SEQ ID No. 1 zeigt die Basenfolge mit Mutationen an allen genannten Positionen.

Darüber hinaus existieren stumme Mutationen. In der Tabelle 1 sind alle Mutationen (missense und stumme) dargestellt:

Tabelle 1

	Nukleinsäure-austausch	Aminosäure-austausch
1	A145G	Ser49Gly
2	G175T	Ala59Ser
3	G1165C	Gly389Arg
4	C1195T	Arg399Cys
5	C1198A	Arg400Arg
6	G1200A	
7	A1205G	His402Arg
8	A1209G	Ala403Ala
9	A1210G	Thr404Ala

10	C1249A	Ala417Ala
11	G1251A	
12	C1252G	Pro418Ala
13	C1254T	
14	C1260G	Gly420Gly
15	A1266G	Pro422Pro
16	G1269C	Pro423Pro
17	C1278T	Gly426Gly

Im Sinne der Erfindung haben sich als besonders bedeutsame Sequenzen für eine Korrelation zu einer DCM erwiesen:

- Sequenz mit der Mutation 145 G, (SEQ ID No. 2)
- Sequenz mit der Mutation 175 T, (SEQ ID No. 3)
- Sequenz mit der Mutation 1165 C (SEQ ID No. 4)
- Sequenz mit den Mutationen 145 G und 175 T, (SEQ ID No. 5)
- Sequenz mit den Mutationen 145 G und 1165 C, (SEQ ID No. 6)
- Sequenz mit den Mutationen 175 T und 1165 C (SEQ ID No. 7)
- Sequenz mit den Mutationen 145 G, 175 T und 1165 C (SEQ ID No. 8).

Gegenstand der Erfindung ist deshalb ferner ein Verfahren zur Bestimmung von Krankheitsdispositionen, wobei alle Sequenzen und Varianten des  $\beta 1$ -Adrenozeptorgens von der Einzelmutation bis zu allen Kombinationen aller Varianten (einschließlich jeder beliebigen absoluten Anzahl von Varianten, die mit einbezogen werden können, von 1 bis „unendlich“) genotypisiert werden können und die entsprechenden Aussagen ermöglichen.

Das Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, daß die DNA eines Probanden isoliert und mindestens an einer der ausgetauschten Positionen genotypisiert und nachfolgend mit der Referenz-DNA-Sequenz verglichen wird. Bevorzugt sind Ausführungsformen, in denen mindestens eine der Positionen 145 und 175 genotypisiert werden.

Die Genotypisierung erfolgt durch Sequenzierung oder durch andere Methoden, die für den Nachweis von Varianten (Punktmutationen) geeignet sind. Dazu gehören PCR-gestützte Genotypisierungsverfahren wie z. B. allel spezifische PCR, andere

Genotypisierungsverfahren unter Verwendung von Oligonukleotiden sowie Verfahren unter Verwendung von Restriktionsenzymen.

Ausgehend davon ist das erfindungsgemäße Verfahren zur Bestimmung von Krankheitsdispositionen geeignet. In einer Ausführungsvariante z.B. zur Bestimmung einer Disposition für Cardiomyopathien, insbesondere von DCM.

Ein weiterer wichtiger Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung der beanspruchten Sequenzvarianten zur Entwicklung von Therapeutika.

So sind sie bevorzugt zur Entwicklung von  $\beta$ 1-Adrenozeptoragonisten und -antagonisten, zum Aufbau von Genen bzw. Vektoren, insbesondere zur Entwicklung von pharmazeutisch relevanten Substanzen sowie zur Entwicklung eines diagnostischen Kits verwendbar. Solche Kits können vorteilhaft zur Vorhersage der individuellen Ansprechbarkeit auf verschiedene  $\beta$ 1-Rezeptorenblocker und zur Vorhersage der unterschiedlichen Disposition für Arzneimittelnebenwirkungen bzw. zur Vorhersage der Gewöhnung auf Medikamentengabe (Tachyphylaxie) eingesetzt werden.

Kulturen (Zellen), die die genannten unterschiedlichsten Kombinationen von individuellen  $\beta$ 1-Varianten exprimieren, können somit als Testmodelle für die Entwicklung individuell spezifischer Therapeutika ( $\beta$ 1-Liganden=Agonisten+Antagonisten) dienen. Das entspricht Testmodellen *in vitro*, aber auch *in vivo* Testmodelle (transgenic animals harboring these variant receptors).

Als individuelle Testmodelle erlauben sie *in vitro* (=*ex vivo*) eine Vorhersage zum individuellen Funktionszustand des  $\beta$ 1-Adrenozeptorgens ( $\beta$ 1-AR) bzw. der von ihm vermittelten Funktionen.

Der Umfang der beanspruchten Erfindung wird im folgenden ausführlich dargestellt.

Zur Erarbeitung der Erfindung wurde die gesamte bekannte DNA-Sequenz des menschlichen  $\beta$ 1-Adrenozeptorgens einschließlich seiner regulierenden und kodierenden Regionen in Patienten und Kontrollen mittels der 'Multiplex PCR Sequenzierung' untersucht, und zunächst eine Reihe von genetischen Varianten identifiziert.

In der 5' regulierenden Region wurden zum bestehenden Zeitpunkt sieben neue Varianten entdeckt, deren wichtigste der Austausch von Ser → Gly (Position 49) im Protein und Ala → Ser (Position 59) zum Nachweis einer Cardiomyopathie zu sein scheint.

Gegenstand der Erfindung sind deshalb auch neue Varianten des  $\beta_1$ -Adrenorezeptors. Insbesondere handelt es sich um Proteine abgeleitet vom  $\beta_1$ -Adrenorezeptor mit Sequenzen, die ganz oder teilweise ausgetauschte Aminosäuren in den Positionen 49 Ser $\rightarrow$ Gly, 59 Ala $\rightarrow$ Ser, 389 Gly $\rightarrow$ Arg, 399 Arg $\rightarrow$ Cys, 402 His $\rightarrow$ Arg, 404 Thr $\rightarrow$ Ala und/oder 418 Pro $\rightarrow$ Ala aufweisen, ausgenommen eine Sequenz mit dem Aminosäureaustausch an Position 49 oder 389.

SEQ ID No. 9 zeigt das Protein mit einem Aminosäureaustausch an allen genannten Positionen.

Die Erfindung wird anschließend durch ein Ausführungsbeispiel näher erläutert.

37 Patienten (34 männlich, 3 weiblich), deren Alter von 23 bis 68 betrug und für die die Diagnose idiopathische dilatative Cardiomyopathie vorlag, wurden untersucht und mit Blutproben von 40 Probanden, bei denen keine Symptome von Herzkrankheiten erkennbar waren, verglichen.

Die DNA der DCM-Patienten und gesunden Probanden wurde aus Blutproben isoliert und auf Mutationen innerhalb der kodierenden Region und der 5' und 3' untranslatierten Region des  $\beta_1$ -AR untersucht.

Für die Erhebung des gesamten polymorphen Spektrums des  $\beta_1$ -Adrenozeptorgens wurde die PCR-Sequenzierungsmethode verwendet. Hierzu wurde die gesamte bekannte Region in acht Fragmente unterteilt und mittels PCR amplifiziert. Die Sequenzierungsbedingungen (Primersequenzen, Annealing Temperatur, GC-Kit-Verwendung) sind in Tabelle 2 dargestellt. Es werden die GC-reichen Sequenzen unter Verwendung des Advantage-GC-Genomic-Polymerase-Mix (Clontech Lab. Inc.) entsprechend dem Protokoll des Herstellers amplifiziert. Die übrigen Assays werden unter Verwendung einer Mixtur enthaltend 50 mmol/l KCl, 1,5 mmol/l MgCl<sub>2</sub>, 10 mmol/l Tris-HCl (pH = 8,3 bei 20 °C), 0,2 mmol/l von jedem Desoxynukleotid, 15 pmol/l des Primers und 1 U Taq DNA-Polymerase (Boehringer Mannheim) durchgeführt. Die Reaktionen fanden in einem Thermal-Cykler (Biometra) beginnend mit einem initiierten Denaturierungsschritt bei 95 °C für 3 Minuten statt.

Tabelle 2

	Name	Primer	Position	T	GC-Kit
1	5utr-nt	v: 5' CGG GCT TCT GGG GTG TTC r: 5' GCG ATG GCC ACG ATC ACC	-73(5'UTR) 251	59	+
2	tm1-tm3	v: 5' CCT GGT CAT GGG GCT GCCT G r: 5' CGG AAG GGC GAG GTG ATG G	312 495	70	-
3	tm3-el2	v: 5' GCT ACC AGA GCC TGC TGA C r: 5' GTA GAA GGA GAC TAC GGA CG	495 702	59	-
4	il2-tm5	v: 5' CCA TCT CGG CCC TGG TGT C r: 5' GAA ACG GCG CTC GCA GCT GTCG	551 795	60	-
5	tm4-il3	v: 5' CAA GTG CTG CGA CTT CGT CA r: 5' CGT GAA GAC GCC CAT GAT GATG	639 1002	62	+
6	il3-ct1	v: 5' CTA CGA GAG CAG AAG GCG CTC r: 5' CTG GAA GGC CTT GCG GAA GTC	945 1164	63	+
7	ct2	v: 5' GAC TTC CGC AAG GCC TTC CAG r: 5' CGT CGT CGT CGT CGT CCG AGG	1144 1300	62	+
8	ct3-3utr	v: 5' CCZ CGG ACG ACG ACG ACG ACG r: TTG TGG GCT TCG AGT TCA CCT G	1280 532	69	+

ct = C-Terminus, el = extrazelluläre Schleife, il = intrazelluläre Schleife, nt = N-Terminus,

tm = Transmembran-Domäne, utr = untranslatierte Region

Die Mutationen wurden unter Anwendung der SSCP (single strand conformation polymorphism analysis) ausgewertet. Zur Identifizierung der Nukleinsäuresubstitutionen wurde ein automatisches Sequenzierungssystem (Applied Biosystem Incorporation) benutzt.

Es wurden sieben unterschiedliche Polymorphismen in der kodierenden Region des Gens gefunden, die der Tabelle 3 entnommen werden können.

Tabelle 3

	Nukleinsäure-Substitution	Aminosäure-Substitution	Allel-Frequenz + Gesunde	Allel-Frequenz + DCM-Patienten
1	A145G	Ser49Gly	0	0,095
2	G175T	Ala59Ser	0,38	0,108

3	G1165C	Gly389Arg	0,743	0,73
4	C1195T	Arg399Cys	0,014	0,027
5	A1205G	His402Arg	0,014	0,027
6	A1210G	Thr404Ala	0,014	0,027
7	C1252G	Pro418Ala	0,014	0,027

Zwei der dargestellten Substitutionen waren in der N-terminalen Region des  $\beta 1$ -AR. Die Substitution der Nukleinsäure 145 (A → G) ergibt die Aminosäurealteration von Ser49 in Gly. Diese Mutation liegt überraschenderweise nur in DCM-Patienten vor (Allel-Frequenz 0,095, ein homozygoter Fall) und nicht bei gesunden Probanden.

Der zweite Aminosäureaustausch in der N-terminalen Region (Ala59 in Ser) wird durch eine Mutation der Nukleinsäure 175 (G → T) hervorgerufen, wobei die Substitution von Ala59Ser in DCM-Patienten wesentlich häufiger auftritt als in gesunden Probanden, ein Patient war homozygot.

Die weiteren Polymorphismen 3 bis 7 sind im cytoplasmatischen Ende in der Nähe der siebenten Transmembran Region des  $\beta 1$ -AR lokalisiert. Der Polymorphismus in Position 1165 (G → C) bewirkt einen Aminosäurewechsel von Gly zu Arg. Diese Mutation kommt in der heterozygoten und homozygoten Form vor und ist so häufig vorhanden, daß in der Population Arginin die predominante Aminosäure ist.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß für die zwei Mutationen innerhalb des N-Terminus des  $\beta 1$ -AR die Allelfrequenz höher in DCM-Patienten war als bei den gesunden Testpersonen. Die Ser49Gly Aminosäuresubstitution war in 16,2 % der DCM-Patienten erkennbar. In den Kontrollen befand sich kein Glycin-Allel.

Die Ala59Ser Mutation war ebenfalls höher frequentiert in DCM-Patienten verglichen mit den Kontrollen.

Die Polymorphismen 3 bis 7 sind sämtlich am C-terminalen Ende von  $\beta 1$ -AR lokalisiert. Die Gly389Arg Mutation (1165 G → C) hat eine Allel-Frequenz von 0,743 in gesunden Testpersonen und 0,73 in DCM-Patienten.

Die anderen vier Mutationen waren ausgesprochen selten vorhanden, und unterschieden sich kaum zwischen DCM-Patienten und gesunden Probanden. Der Polymorphismus in Position 1165 bewirkt einen Aminosäurewechsel von Gly in Arg. Diese Mutation erfolgte in der heterozygoten und in der homozygoten Form und war so oft vorhanden, daß in der untersuchten Population die prädominante Aminosäure Arginin ist.

**Patentansprüche**

1. Sequenz des menschlichen  $\beta$ 1-Adrenozeptorgens, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine bis mindestens sieben Mutationen aufweist, ausgenommen eine Sequenz mit der Mutation A→G (Position 145) oder G→C (Position 1165).
2. Sequenz nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sich die Mutationen vorzugsweise in der Aminosäuren-kodierenden Region des Gens befinden.
3. Sequenz nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß eine bis mindestens 2 Mutationen am N-terminalen Ende und eine bis mindestens 5 Mutationen am C-terminalen Ende lokalisiert sind.
4. Sequenz nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß sie ganz oder teilweise die Basenaustausche A→G (Position 145), G→T (Position 175), G→C (Position 1165), C→T (Position 1195), A→G (Position 1205), A→G (Position 1210), C→G (Position 1252) enthält, ausgenommen eine Sequenz mit der Mutation A→G (Position 145) oder G→C (Position 1165).
5. Sequenz nach Anspruch 4, gekennzeichnet durch die Mutation 175 T.
6. Sequenz nach Anspruch 4, gekennzeichnet durch die Mutationen 145 G und 175 T.
7. Sequenz nach Anspruch 4, gekennzeichnet durch die Mutationen 175 T und 1165 C.
8. Sequenz nach Anspruch 4, gekennzeichnet durch die Mutationen 145 G, 175 T und 1165 C.
9. Verfahren zur Bestimmung von Krankheitsdispositionen, dadurch gekennzeichnet, daß die DNA des  $\beta$ 1-Adrenozeptorgens eines Probanden isoliert und mindestens an einer der ausgetauschten Positionen genotypisiert und nachfolgend mit einer Referenz-DNA-Sequenz verglichen wird, wobei ggf. alle möglichen Kombinationen von Varianten von der Einzelmutation bis zu allen möglichen Kombinationen aller Varianten einschließlich jeder beliebigen absoluten Anzahl von Varianten einbezogen werden.

10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die DNA mindestens an einer der Positionen 145, 175 oder 1165 genotypisiert wird, vorzugsweise an der Position 145 oder 175.
11. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die DNA mindestens an den Positionen 145 und 175 oder 145 und 1165 genotypisiert wird.
12. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die DNA mindestens an den Positionen 145, 175 und 1165 genotypisiert wird.
13. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Genotypisierung durch Sequenzierung oder durch andere Methoden, die für die Detektion von Varianten geeignet sind, erfolgt.
14. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 bis 13 zur Bestimmung einer Disposition für Cardiomyopathien, insbesondere zur Bestimmung der dilatativen Cardiomyopathie.
15. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 bis 13 zur Bestimmung des Verlaufs und des Schweregrads von Cardiomyopathien, insbesondere zur Bestimmung der dilatativen Cardiomyopathie.
16. Verwendung der Sequenzen gemäß einem der Ansprüche 1 bis 8 zur Entwicklung von Therapeutika, insbesondere zur Entwicklung einer neuen Klasse von  $\beta 1$ -Adrenozeptoragonisten und -antagonisten.
17. Verwendung nach Anspruch 16 zum Aufbau von Genen bzw. Vektoren, insbesondere zur Entwicklung von pharmazeutisch relevanten Substanzen.
18. Verwendung nach Anspruch 16 oder 17 zur Entwicklung eines diagnostischen Kits.
19. Verwendung nach Anspruch 18 zur Entwicklung eines diagnostischen Kits zur Vorhersage der individuellen Ansprechbarkeit auf verschiedene  $\beta 1$ -Adrenozeptor-agonisten sowie -antagonisten.
20. Verwendung nach Anspruch 18 oder 19 zur Entwicklung eines diagnostischen Kits zur Vorhersage der unterschiedlichen Disposition für Arzneimittelnebenwirkungen.

21. Verwendung nach Anspruch 18 oder 19 zur Entwicklung eines diagnostischen Kits zur Vorhersage der Gewöhnung auf Medikamentengabe (Tachyphylaxie).

22. Neue Varianten des  $\beta_1$ -Adrenorezeptors gekennzeichnet durch die Sequenzen, die ganz oder teilweise ausgetauschte Aminosäuren in den Positionen 49 Ser $\rightarrow$ Gly, 59 Ala $\rightarrow$ Ser, 389 Gly $\rightarrow$ Arg, 399 Arg $\rightarrow$ Cys, 402 His $\rightarrow$ Arg, 404 Thr $\rightarrow$ Ala und/oder 418 Pro $\rightarrow$ Ala aufweisen, ausgenommen eine Sequenz mit dem Aminosäureaustausch an Position 49 oder 389.

## SEQUENZPROTOKOLL

1

## (1) ALLGEMEINE INFORMATION:

## (i) ANMELDER:

- (A) NAME: Max-Delbrueck-Centrum fuer Molekulare Medizin
- (B) STRASSE: Robert-Roessle-Str. 10
- (C) ORT: Berlin
- (E) LAND: Deutschland
- (F) POSTLEITZAHL: D-13125

## (ii) ANMELDETITEL: Neue Sequenzvarianten des menschlichen beta1-Adrenozeptorgens und ihre Verwendung

## (iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 9

## (iv) COMPUTER-LESBARE FORM:

- (A) DATENTRÄGER: Floppy disk
- (B) COMPUTER: IBM PC compatible
- (C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
- (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.25 (EPA)

## (2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 1:

## (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 1637 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Doppel
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNS (genomisch)

## (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:

ATGGGCGCGG GGGTGCTCGT CCTGGGCGCC TCCGAGCCCG GTAACCTGTC GTGGCCGCA	60
CCGCTCCCCG ACGGCGCGGC CACCGCGGGCG CGGCTGCTGG TGCCCCGCGTC GCCGCCCGCC	120
TCGTTGCTGC CTCCCGCCAG CGAAGGCCCG GAGCCGCTGT CTCAGCAGTG GACATCGGGC	180
ATGGGTCTGC TGATGGCGCT CATCGTGTG CTCATCGTGG CGGGCAATGT GCTGGTGATC	240
GTGGCCATCG CCAAGACGCC GCGGCTGCAG ACGCTCACCA ACCTCTTCAT CATGTCCCTG	300
GCCAGCGCCCG ACCTGGTCAT GGGGCTGCTG GTGGTGCCGT TCGGGGCCAC CATCGTGGTG	360
TGGGGCCGCT GGGAGTACGG CTCCTTCTTC TGCGAGCTGT GGACCTCAGT GGACGTGCTG	420
TGGCGTACGG CCAGCATCGA GACCCTGTGT GTCATTGCCCG TGGACCGCTA CCTCGCCATC	480
ACCTCGCCCT TCCGCTACCA GAGCCTGCTG ACGCGCGCGC GGGCGCGGGG CCTCGTGTGC	540

ACCGTGTGGG CCATCTCGGC CCTGGTGTCC TTCTGCCA TCCTCATGCA CTGGTGGCGG	600
GCGGAGAGCG ACGAGGCGCG CCGCTGCTAC AACGACCCCA AGTGCTGCGA CTTCGTCACC	660
AACCGGGCCT ACGCCATCGC CTCGTCCGTA GTCTCCTTCT ACGTGCCCT GTGCATCATG	720
GCCTTCGTGT ACCTGCGGGT GTTCCGCGAG GCCCAGAAC AGGTGAAGAA GATCGACAGC	780
TGCGAGCGCC GTTTCCTCGG CGGCCAGCG CGGCCGCCCT CGCCCTGCC CTCGCCCGTC	840
CCCGCGCCCG CGCCGCCGCC CGGACCCCCG CGCCCCGCCG CGGCCGCCGC CACCGCCCCG	900
CTGGCCAACG GGCCTGCGGG TAAGCGGCGG CCCTCGCGCC TCGTGGCCCT ACGCGAGCAG	960
AAGGCCTCA AGACGCTGGG CATCATCATG GGCGTCTTCA CGCTCTGCTG GCTGCCCTTC	1020
TTCCTGGCCA ACGTGGTGAA GGCCTTCCAC CGCGAGCTGG TGCCCGACCG CCTCTTCGTC	1080
TTCTTCAACT GGCTGGGCTA CGCCAACCTCG GCCTCAACC CCATCATCTA CTGCCGCAGC	1140
CCCGACTTCC GCAAGGCCTT CCAGCGACTG CTCTGCTGCG CGCGCAGGGC TGCCGCCGG	1200
CGCCGCCGG CCCACGGAGA CGGGCCGCGC GCCTCGGGCT GTCTGGCCCG GGCGGACCC	1260
CCGCCATCGC CGGGGGCCGC CTCGGACGAC GACGACGACG ATGTCGTCGG GGCCACGCCG	1320
CCCGCGCGCC TGCTGGAGCC CTGGGCCGGC TGCAACGGCG GGGCGGCCGG GGACAGCGAC	1380
TCGAGCCTGG ACGAGCCGTG CGGCCCGGC TTCGCCTCGG AATCCAAGGT GTAGGGCCCG	1440
GCGCGGGCG CGGACTCCGG GCACGGCTTC CCAGGGGAAC GAGGAGATCT GTGTTTACTT	1500
AAGACCGATA GCAGGTGAAC TCGAAGCCCA CAATCCTCGT CTGAATCATC CGAGGCAAAG	1560
AGAAAAGCCA CGGACCGTTG CACAAAAAGG AAAGTTGGG AAGGGATGGG AGAGTGGCTT	1620
GCTGATGTTG CTTGTTG	1637

## (2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 2:

## (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 1637 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Doppel
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNS (genomisch)

## (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 2:

ATGGGCGCGG GGGTGCTCGT CCTGGGCCGC TCCGAGCCCG GTAACCTGTC GTCGGCCGCA	60
CCGCTCCCG ACAGCGCGGC CACCGCGCGC CGGCTGCTGG TGCCCGCGTC GCCGCCGCC	120
TCGTTGCTGC CTCCCGCCAG CGAAGGCCCG GAGCCGCTGT CTCAGCAGTG GACAGCGGGC	180
ATGGGTCTGC TGATGGCGCT CATCGTGCTG CTCATCGTGG CGGGCAATGT GCTGGTGATC	240

3

GTGGCCATCG CCAAGACGCC GCGGCTGCAG ACGCTCACCA ACCTCTTCAT CATGCCCTG	300
GCCAGGCCG ACCTGGTCAT GGGGCTGCTG GTGGTGCCGT TCAGGGCCAC CATCGTGGTG	360
TGGGGCCGCT GGGAGTACGG CTCCCTCTTC TGCGAGCTGT GGACCTCAGT GGACGTGCTG	420
TGCGTGACGG CCAGCATCGA GACCCTGTGT GTCATTGCC TGGACCGCTA CCTCGCCATC	480
ACCTCGCCCT TCCGCTACCA GAGCCTGCTG ACGCGCGCGC GGGCGCGGGG CCTCGTGTGC	540
ACCGTGTGGG CCATCTCGGC CCTGGTGTCC TTCCTGCCA TCCTCATGCA CTGGTGGCGG	600
GCGGAGAGCG ACGAGGCGCG CCGCTGCTAC AACGACCCCA AGTGCTGCGA CTTCGTCACC	660
AACCGGGCCT ACGCCATCGC CTCGTCCGTA GTCTCCTTCT ACGTGCCCT GTGCATCATG	720
GCCTTCGTGT ACCTGCGGGT GTTCCGCGAG GCCCAGAACG AGGTGAAGAA GATCGACAGC	780
TGCGAGCGCC GTTTCCTCGG CGGCCAGCG CGGCCGCCCT CGCCCTCGCC CTCGCCCGTC	840
CCCGCGCCCCG CGCCGCGGCC CGGACCCCG CGCCCCGCGC CGCCGCGCGC CACCGCCCCG	900
CTGGCCAACG GGCGTGCAGG TAAGCGCGG CCCTCGCGCC TCGTGGCCCT ACGCGAGCAG	960
AAGGCGCTCA AGACGCTGGG CATCATCATG GGCGTCTTCA CGCTCTGCTG GCTGCCCTTC	1020
TTCCCTGGCCA ACGTGGTGAA GGCTTCCAC CGCGAGCTGG TGCCCGACCG CCTCTTCGTC	1080
TTCTTCAACT GGCTGGGCTA CGCCAACTCG GCCTCAACC CCATCATCTA CTGCCGCAGC	1140
CCCGACTTCC GCAAGGCCTT CCAGGGACTG CTCTGCTGCG CGCGCAGGGC TGCCCGCCGG	1200
CGCCACCGCGA CCCACGGAGA CGGGCCGCGC GCCTCGGGCT GTCTGGCCCG GCCCCGGACCC	1260
CCGCCATCGC CGGGGGCCGC CTCGGACGAC GACGACGACG ATGTCGTCGG GGCCACGCG	1320
CCCAGCGCGCC TGCTGGAGCC CTGGGCCGGC TGCAACGGCG GGGCGGCCGG GGACAGCGAC	1380
TCGAGCCTGG ACGAGCCGTG CCGCCCCGGC TTCCGCTCGG AATCCAAGGT GTAGGGCCCG	1440
GCGCGGGCG CGGACTCCGG GCACGGCTTC CCAGGGGAAC GAGGAGATCT GTGTTTACTT	1500
AAGACCGATA GCAGGTGAAC TCGAAGCCCA CAATCCTCGT CTGAATCATC CGAGGCAAAG	1560
AGAAAAGCCA CGGACCGTTG CACAAAAAGG AAAGTTGGG AAGGGATGGG AGAGTGGCTT	1620
GCTGATGTTG CTTGTTG	1637

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 3:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 1637 Basenpaare

(B) ART: Nukleinsäure

(C) STRANGFORM: Doppel

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNS (genomisch)

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 3:

ATGGGCGCGG	GGGTGCTCGT	CCTGGGCC	TCCGAGCCCG	GTAACCTGTC	GTGGCCGCA	60
CCGCTCCCCG	ACGGCGCGGC	CACCGCGGCG	CGGCTGCTGG	TGCCC CGTC	GCCGCCCGCC	120
TCGTTGCTGC	CTCCC GCCAG	CGAAAGCCCC	GAGCCGCTGT	CTCAGCAGTG	GACATCGGGC	180
ATGGGTCTGC	TGATGGCGCT	CATCGTGCTG	CTCATCGTGG	CGGGCAATGT	GCTGGTGATC	240
GTGGCCATCG	CCAAGACGCC	GCGGCTGCAG	ACGCTCACCA	ACCTCTTCAT	CATGTCCCTG	300
GCCAGCGCCG	ACCTGGTCAT	GGGGCTGCTG	GTGGTGCCGT	TCGGGGCCAC	CATCGTGGTG	360
TGGGGCCGCT	GGGAGTACGG	CTCCCTCTTC	TGCGAGCTGT	GGACCTCAGT	GGACGTGCTG	420
TGCGTGACGG	CCAGCATCGA	GACCCTGTGT	GTCATTGCC	TGGACCGCTA	CCTCGCCATC	480
ACCTCGCCCT	TCCGCTACCA	GAGCCTGCTG	ACGCGCGCGC	GGGGCGGGGG	CCTCGTGTGC	540
ACCGTGTGGG	CCATCTCGGC	CCTGGTGTCC	TTCCCTGCCA	TCCTCATGCA	CTGGTGGCGG	600
GCGGAGAGCG	ACGAGGCGCG	CCGCTGCTAC	AACGACCCCA	AGTGCTGCCA	CTTCGTCACC	660
AACCGGGCCT	ACGCCATCGC	CTCGTCCGTA	GTCTCCCTCT	ACGTGCCCT	GTGCATCATG	720
GCCTTCGTGT	ACCTGCGGGT	GTTCCGCGAG	GCCCAGAAC	AGGTGAAGAA	GATCGACAGC	780
TGCGAGCGCC	GTTTCCTCGG	CGGCCAGCG	CGGCCGCCCT	CGCCCTCGCC	CTCGCCCGTC	840
CCCGCGCCCG	CGCCGCCGCC	CGGACCCCG	CGCCCCGCCG	CGGCCGCCGC	CACCGCCCCG	900
CTGGCCAACG	GGCGTGCAGGG	TAAGCGCGG	CCCTCGCGCC	TCGTGGCCCT	ACGCGAGCAG	960
AAGGCCTCA	AGACGCTGGG	CATCATCATG	GGCGTCTTCA	CGCTCTGCTG	GCTGCCCTTC	1020
TTCCCTGCCA	ACGTGGTGAA	GGCCTTCCAC	CGCGAGCTGG	TGCCCCACCG	CCTCTTCGTC	1080
TTCTTCAACT	GGCTGGGCTA	CGCCA ACTCG	GCCTTCAACC	CCATCATCTA	CTGCCGCAGC	1140
CCCGACTTCC	GCAAGGCCTT	CCAGGGACTG	CTCTGCTGCG	CGCGCAGGGC	TGCCCCCGGG	1200
CGCCACCGGA	CCCACGGAGA	CCGGCCGCGC	GCCTCGGGCT	GTCTGGCCCG	GCCCCGACCC	1260
CCGCCATCGC	CCGGGGCCGC	CTCGGACGAC	GACGACGACG	ATGTCGTCGG	GGCCACGCCG	1320
CCCGCGCGCC	TGCTGGAGCC	CTGGGCCGGC	TGCAACGGCG	GGGCGGCCGC	GGACAGCGAC	1380
TCGAGCCTGG	ACGAGCCGTG	CCGCCCCGGC	TTCGCCTCGG	AATCCAAGGT	GTAGGGCCCG	1440
GCGCGGGCG	CGGACTCCGG	GCACGGCTTC	CCAGGGGAAC	GAGGAGATCT	GTGTTTACTT	1500
AAGACCGATA	GCAGGTGAAC	TCGAAGCCCA	CAATCCTCGT	CTGAATCATC	CGAGGCAAAG	1560
AGAAAAGCCA	CGGACCGTTG	CACAAAAAGG	AAAGTTGGG	AAGGGATGGG	AGAGTGGCTT	1620
GCTGATGTT	CTTGTGTT					1637

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 4:

## (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 1637 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Doppel
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNS (genomisch)

## (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 4:

ATGGGCGCGG GGGTGCTCGT CCTGGGCGCC TCCGAGCCCG GTAAACCTGTC GTCGGCCGCA	60
CCGCTCCCCG ACGGCGCGGC CACCGCGGCG CGGCTGCTGG TGCCCGCGTC GCCGCCCGCC	120
TCGTTGCTGC CTCCCAGCG CGAAAGCCCC GAGCCGCTGT CTCAGCAGTG GACAGCGGGC	180
ATGGGTCTGC TGATGGCGCT CATCGTGTG CTCATCGTGG CGGGCAATGT GCTGGTGATC	240
GTGGCCATCG CCAAGACGCC GCGGCTGCAG ACGCTCACCA ACCTCTTCAT CATGTCCCTG	300
GCCAGCGCCG ACCTGGTCAT GGGGCTGCTG GTGGTGCCGT TCAGGGCACAC CATCGTGGTG	360
TGGGGCCGCT GGGAGTACGG CTCCCTCTTC TGCGAGCTGT GGACCTCAGT GGACGTGCTG	420
TGCGTGACGG CCAGCATCGA GACCCTGTGT GTCATTGCC TGGACCGCTA CCTCGCCATC	480
ACCTCGCCCT TCCGCTACCA GAGCCTGCTG ACGCGCGCGC GGGCGCGGGG CCTCGTGTGC	540
ACCGTGTGGG CCATCTCGGC CCTGGTGCTCC TTCCCTGCCA TCCTCATGCA CTGGTGGCGG	600
GCGGAGAGCG ACGAGGCGCG CCGCTGCTAC AACGACCCCA AGTGCTGCGA CTTCGTCACC	660
AACCGGGCCT ACGCCATCGC CTCGTCCGTA GTCTCCTTCT ACGTGCCCT GTGCATCATG	720
GCCTTCGTGT ACCTGCGGGT GTTCCGCGAG GCCCAGAACG AGGTGAAGAA GATCGACAGC	780
TGCGAGCGCC GTTCCTCGG CGGCCAGCG CGGGCGCCCT CGCCCTCGCC CTCGCCCCGTC	840
CCCGCGCCCG CGCCGCCGCC CGGACCCCG CGCCCCGCCG CGCCCGCCGC CACCGCCCCG	900
CTGGCCAACG GGCCTGCGGG TAAGCGCGG CCCTCGCGCC TCGTGGCCCT ACGCGAGCAG	960
AAGGCCTCA AGACGCTGGG CATCATCATG GGCCTTCA CGCTCTGCTG GCTGCCCTTC	1020
TTCCCTGGCCA ACGTGGTGAA GGCCTTCCAC CGCGAGCTGG TGCCCGACCG CCTCTTCGTC	1080
TTCTTCAACT GGCTGGCTA CGCCAACCTCG GCCTCAACC CCATCATCTA CTGCCGCAGC	1140
CCCGACTTCC GCAAGGCCTT CCAGCGACTG CTCTGCTGCG CGCGCAGGGC TGCCCGCCGG	1200

CGCCACGCGA CCCACGGAGA CCGGCCGCGC GCCTCGGGCT GTCTGGCCCG GCCCGGACCC	1260
CCGCCATCGC CCGGGGCCGC CTCGGACGAC GACGACGACG ATGTCGTCGG GGCCACGCG	1320
CCCGCGCGCC TGCTGGAGCC CTGGGCCGGC TGCAACGGCG GGGCGGCCGGC GGACAGCGAC	1380
TCGAGCCTGG ACGAGCCGTG CCGCCCCGGC TTCCGCTCGG AATCCAAGGT GTAGGGCCCG	1440
GCGCGGGCG CGGACTCCGG GCACGGCTTC CCAGGGAAC GAGGAGATCT GTGTTTACTT	1500
AAGACCGATA GCAGGTGAAC TCGAAGCCCA CAATCCTCGT CTGAATCATC CGAGGCAAAG	1560
AGAAAAGCCA CGGACCGTTG CACAAAAAGG AAAGTTTGGG AAGGGATGGG AGAGTGGCTT	1620
GCTGATGTTC CTTGTTG	1637

## (2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 5:

## (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 1637 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Doppel
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNS (genomisch)

## (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 5:

ATGGGCGCGG GGGTGCTCGT CCTGGCGCC TCCGAGCCCG GTAACCTGTC GTGGCCGCA	60
CCGCTCCCCG ACGGCGCGC CACCGCGCG CGGCTGCTGG TGCCCGCGTC GCCGCCC GCC	120
TCGTTGCTGC CTCCCGCCAG CGAAGGCCCC GAGCCGCTGT CTCAGCAGTG GACATCGGGC	180
ATGGGTCTGC TGATGGCGCT CATCGTCTG CTCATCGTGG CGGGCAATGT GCTGGTGATC	240
GTGGCCATCG CCAAGACGCC GCGGCTGCAG ACGCTCACCA ACCTCTTCAT CATGTCCCTG	300
GCCAGCGCCG ACCTGGTCAT GGGGCTGCTG GTGGTGCCGT TCAGGGCCAC CATCGTGGTG	360
TGGGGCCGCT GGGAGTACGG CTCCCTCTTC TGGAGCTGT GGACCTCAGT GGACGTGCTG	420
TGCGTGACGG CCAGCATCGA GACCTGTGT GTCATTGCC TGGACCGCTA CCTCGCCATC	480
ACCTCGCCCT TCCGCTACCA GAGCCTGCTG ACGCGCGCGC GGGCGCGGGG CCTCGTGTGC	540
ACCGTGTGGG CCATCTCGGC CCTGGTGTCC TTCCCTGCCA TCCTCATGCA CTGGTGGCGG	600
GCGGAGAGCG ACGAGGCGCG CCGCTGCTAC AACGACCCCA AGTGCTGCGA CTTCGTCACC	660
AACCGGGCCT ACGCCATCGC CTCGTCCGTA GTCTCCTTCT ACGTGCCCT GTGCATCATG	720
GCCTTGTGT ACCTGCGGGT GTTCCGCGAG GCCCAGAAC AGGTGAAGAA GATCGACAGC	780
TGCGAGCGCC GTTCCCTCGG CGGCCAGCG CGGCCGCCCT CGCCCTCGCC CTCGCCCGTC	840

CCCGCGCCCC	CGCCGCCGCC	CGGACCCCCG	CGCCCCGCCG	CCGCCGCCGC	CACCGCCCCG	900
CTGGCCAACG	GGCGTGCAGG	TAAGCGGCAG	CCCTCGCGCC	TCGTGGCCCT	ACGCGAGCAG	960
AAGGCGCTCA	AGACGCTGGG	CATCATCATG	GGCGTCTTCA	CGCTCTGCTG	GCTGCCCTTC	1020
TTCCTGGCCA	ACGTGGTGAA	GGCCTTCCAC	CGCGAGCTGG	TGCCCAGACCG	CCTCTTCGTC	1080
TTCTTCAACT	GGCTGGGCTA	CGCCAACTCG	GCCTCAACC	CCATCATCTA	CTGCCGCAGC	1140
CCCGACTTCC	GCAAGGCCTT	CCAGGGACTG	CTCTGCTGCG	CGCGCAGGGC	TGCCCAGCCG	1200
CGCCACGCGA	CCCACGGAGA	CCGGCCGCCG	GCCTCGGGCT	GTCTGGCCCG	GCCCCGACCC	1260
CCGCCATCGC	CCGGGGCCGC	CTCGGACGAC	GACGACGACG	ATGTCGTCGG	GGCCACGCGG	1320
CCCGCGCGCC	TGCTGGAGCC	CTGGGCCGGC	TGCAACGGCG	GGGGCGGCCG	GGACAGCGAC	1380
TCGAGCCTGG	ACGAGCCGTG	CCGCCCCGGC	TTCCGCTCGG	AATCCAAGGT	GTAGGGCCCG	1440
GCGCGGGCG	CGGACTCCGG	GCACGGCTTC	CCAGGGGAAC	GAGGAGATCT	GTGTTTACTT	1500
AAGACCGATA	GCAGGTGAAC	TCGAAGCCCA	CAATCCTCGT	CTGAATCATC	CGAGGCAAAG	1560
AGAAAAGCCA	CGGACCGTTG	CACAAAAGG	AAAGTTGGG	AAGGGATGGG	AGAGTGGCTT	1620
GCTGATGTTTC	CTTGTGTTG					1637

## (2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 6:

## (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 1637 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Doppel
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNS (genomisch)

## (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 6:

ATGGGCGCGG	GGGTGCTCGT	CCTGGCGGCC	TCCGAGCCCG	GTAACCTGTC	GTCGGCCGCA	60
CCGCTCCCCG	ACGGCGCGGC	CACCGCGGCG	CGGCTGCTGG	TGCCCAGCGTC	GCCGCCCGCC	120
TCGTTGCTGC	CTCCCGCCAG	CGAAGGCCCG	GAGCCGCTGT	CTCAGCAGTG	GACAGCGGGC	180
ATGGGTCTGC	TGATGGCGCT	CATCGTGCTG	CTCATCGTGG	CGGGCAATGT	GCTGGTGATC	240
GTGGCCATCG	CCAAGACGCC	GCGGCTGCAG	ACGCTCACCA	ACCTCTTCAT	CATGTCCCTG	300
GCCAGCGCCG	ACCTGGTCAT	GGGGCTGCTG	GTGGTGCCGT	TCGGGGCCAC	CATCGTGGTG	360
TGGGGCCGCT	GGGAGTACGG	CTCCTTCTTC	TGCGAGCTGT	GGACCTCAGT	GGACGTGCTG	420

TGCGTGACGG CCAGCATCGA GACCCTGTGT GTCATTGCC C	480
ACCTCGCCCT TCCGCTACCA GAGCCTGCTG ACGCGCGCG GGGCGCGGGG CCTCGTGTGC	540
ACCGTGTGGG CCATCTCGGC CCTGGTGTCC TTCCCTGCCA TCCTCATGCA CTGGTGGCGG	600
GCGGAGAGCG ACGAGGCGCG CCGCTGCTAC AACGACCCCA AGTGCTGCGA CTTCGTCACC	660
AACCGGGCCT ACGCCATCGC CTCGTCCGTA GTCTCCTTCT ACGTGCCCCCT GTGCATCATG	720
GCCTTCGTGT ACCTGCGGGT GTTCCCGAG GCCCAGAACG AGGTGAAGAA GATCGACAGC	780
TGCGAGCGCC GTTTCTCGG CGGCCAGCG CGGCCGCCCT CGGCCCTCGCC CTCGCCCCGTC	840
CCCGCGCCCG CGCCGCCGCC CGGACCCCCG CGCCCCGCCG CGGCCGCCGC CACCGCCCCG	900
CTGGCCAACG GGCGTGCAGG TAAGCGGGG CCCTCGCGCC TCGTGGCCCT ACGCGAGCAG	960
AAGGCCTCA AGACGCTGGG CATCATCATG GGCGTCTTCA CGCTCTGCTG GCTGCCCTTC	1020
TTCCCTGGCCA ACGTGGTGAAC GGCTTCCAC CGCGAGCTGG TGCCCGACCG CCTCTTCGTC	1080
TTCTTCAACT GGCTGGCTA CGCCAACTCG GCCTCAACC CCATCATCTA CTGCCGCAGC	1140
CCCGACTTCC GCAAGGCCTT CCAGCGACTG CTCTGCTGCG CGCGCAGGGC TGCCCGCCGG	1200
CGCCACGGGA CCCACGGAGA CGGGCCGCC GCCTCGGGCT GTCTGGCCCG GCCCCGACCC	1260
CCGCCATCGC CGGGGGCCGC CTCGGACGAC GACGACGACG ATGTCGTCGG GGCCACGCCG	1320
CCCGCGCGCC TGCTGGAGCC CTGGGCGGCC TGCAACGGCG GGGCGCGGC GGACAGCGAC	1380
TCGAGCCTGG ACGAGCCGTG CGGCCCCGG TTCGCCTCGG AATCCAAGGT GTAGGGCCCG	1440
GCGCGGGCG CGGACTCCGG GCACGGCTTC CCAGGGGAAC GAGGAGATCT GTGTTACTT	1500
AAGACCGATA GCAGGTGAAC TCGAAGCCA CAATCCTCGT CTGAATCATC CGAGGCAAAG	1560
AGAAAAGCCA CGGACCGTTG CACAAAAAGG AAAGTTGGG AAGGGATGGG AGAGTGGCTT	1620
GCTGATGTTG CTTGTTG	1637

## (2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 7:

## (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 1637 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Doppel
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNS (genomisch)

## (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 7:

ATGGGCGCGG GGGTGCTCGT CCTGGGCGCC TCCGAGCCCG GTAACCTGTC GTGGGCCGCA	60
CCGCTCCCCG ACGGCGCGGC CACCGCGCG CGGCTGCTGG TGCCCGCGTC GCCGCCCGCC	120
TCGTTGCTGC CTCCCAGCG CGAAAGCCCC GAGCCGCTGT CTCAGCAGTG GACATCGGGC	180
ATGGGTCTGC TGATGGCGCT CATCGTGCTG CTCATCGTGG CGGGCAATGT GCTGGTGATC	240
GTGGCCATCG CCAAGACGCC GCGGCTGCAG ACGCTCACCA ACCTCTTCAT CATGTCCCTG	300
GCCAGCGCCG ACCTGGTCAT GGGGCTGCTG GTGGTGCCGT TCGGGGCCAC CATCGTGGTG	360
TGGGGCCGCT GGGAGTACGG CTCCCTCTTC TGCGAGCTGT GGACCTCAGT GGACGTGCTG	420
TGCGTGACGG CCAGCATCGA GACCCTGTGT GTCATTGCC CTTGACCGCTA CCTCGCCATC	480
ACCTCGCCCT TCCGCTACCA GAGCCTGCTG ACGCGCGCGC GGGCGCGGGG CCTCGTGTGC	540
ACCGTGTGGG CCATCTCGGC CCTGGTGTCCT TTCCCTGCCA TCCTCATGCA CTGGTGGCGG	600
GCGGAGAGCG ACGAGGCGCG CCGCTGCTAC AACGACCCCA AGTGCTGCGA CTTCGTCACC	660
AACCGGGCCT ACGCCATCGC CTCGTCCGTA GTCTCCTTCT ACGTGCCCT GTGCATCATG	720
GCCTTCGTGT ACCTGCGGGT GTTCCCGAGGCC AGGTGAAGAA GATCGACAGC	780
TGCGAGCGCC GTTTCCCTCGG CGGCCAGCG CGGCCGCCCT CGCCCTCGCC CTCGCCCCGTC	840
CCCGCGCCCG CGCCGCCGCC CGGACCCCCG CGCCCCGCCG CGGCCGCCGC CACCGCCCCG	900
CTGGCCAACG GGCCTGCGGG TAAGCGCGG CCCTCGCGCC TCGTGGCCCT ACGCGAGCAG	960
AAGGCGCTCA AGACGCTGGG CATCATCATG GGCCTTCA CGCTCTGCTG GCTGCCCTTC	1020
TTCCCTGGCCA ACGTGGTGAA GGCTTCCAC CGCGAGCTGG TGCCCGACCG CCTCTTCGTC	1080
TTCTTCAACT GGCTGGGCTA CGCCAACCTCG GCCTTCAACC CCATCATCTA CTGCCGCAGC	1140
CCCGACTTCC GCAAGGCCTT CCAGCGACTG CTCTGCTGCG CGCGCAGGGC TGCCCGCCGG	1200
CGCCACCGGA CCCACGGAGA CGGCCGCCGC GCCTCGGGCT GTCTGGCCCG GCCCGGACCC	1260
CCGCCATCGC CCGGGGCCGC CTCGGACGAC GACGACGACG ATGTCGTCGG GGCCACGCCG	1320
CCCGCGCGCC TGCTGGAGCC CTGGGCCGGC TGCAACGGCG GGGCGGCCGG GGACAGCGAC	1380
TCGAGCCTGG ACGAGCCGTG CCGCCCCGGC TTCGCCTCGG AATCCAAGGT GTAGGGCCCG	1440
GCGCGGGCG CGGACTCCGG GCACGGCTTC CCAGGGGAAC GAGGAGATCT GTGTTACTT	1500
AAGACCGATA GCAGGTGAAC TCGAAGCCCA CAATCCTCGT CTGAATCATC CGAGGCAAAG	1560
AGAAAAGCCA CGGACCGTTG CACAAAAAGG AAAGTTGGG AAGGGATGGG AGAGTGGCTT	1620
GCTGATGTTC CTTGTTG	1637

## (2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 8:

## (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 1637 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Doppel
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNS (genomisch)

## (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 8:

ATGGGCGCGG GGGTGCTCGT CCTGGGCGCC TCCGAGCCCC	60
GTAACCTGTC GTCGGCCGCA	
CCGCTCCCCG ACGGCGCGGC CACCGCGCG CGGCTGCTGG	120
TGCCCGCGTC GCCGCCGCC	
TCGTTGCTGC CTCCCGCCAG CGAAGGCCCC GAGCCGCTGT	180
CTCAGCAGTG GACATCGGGC	
ATGGGTCTGC TGATGGCGCT CATCGTGCTG CTCATCGTGG	240
CGGGCAATGT GCTGGTGATC	
GTGGCCATCG CCAAGACGCC GCGGCTGCAG ACGCTCACCA	300
ACCTCTTCAT CATGTCCCTG	
GCCAGCGCCG ACCTGGTCAT GGGGCTGCTG GTGGTGCCGT	360
TCGGGGCCAC CATCGTGGTG	
TGGGGCCGCT GGGAGTACGG CTCCCTCTTC TGCGAGCTGT	420
GGACCTCAGT GGACGTGCTG	
TGCGTGACGG CCAGCATCGA GACCCTGTGT GTCATTGCC	480
TGGACCGCTA CCTCGCCATC	
ACCTCGCCCT TCCGCTACCA GAGCCTGCTG ACGCGCGCGC	540
GGGCGCGGGG CCTCGTGTGC	
ACCGTGTGGG CCATCTCGGC CCTGGTGTCC TTCCCTGCCA	600
TCCTCATGCA CTGGTGGCGG	
GCCTCGTGT ACCTGCGGGT GTTCCCGAG GCCCAGAAC	660
AGGTGAAGAA GATCGACAGC	
TGCGAGCGCC GTTTCCCTCGG CGGCCAGCG CGGCCGCC	720
CGCCCTCGCC CTCGCCCGTC	
ACCGGGCCT ACCGCATCGC CTCGTCCGTA GTCTCCTTCT	780
ACGTGCCCT GTGCATCATG	
GCCTTCGTGT ACCTGCGGGT GTTCCCGAG GCCCAGAAC	840
AGGTGAAGAA GATCGACAGC	
TGCGAGCGCC GTTTCCCTCGG CGGCCAGCG CGGCCGCC	900
CGCCCTCGCC CTCGCCCGTC	
CTGGCCAACG GGCGTGCAGG TAAGCGCGG CCCTCGCGC	960
TCGTGGCCCT ACGCGAGCAG	
AAGGCCTCA AGACGCTGGG CATCATCATG GGCCTTCA	1020
CGCTCTGCTG GCTGCCCTTC	
TTCCCTGGCCA ACGTGGTGAA GGCTTCCAC CGCGAGCTGG	1080
TGCCCGACCG CCTCTTCGTC	
TTCTTCAACT GGCTGGGCTA CGCCAACCTCG GCCTCAACC	1140
CCATCATCTA CTGCCGCAGC	
CCCGACTTCC GCAAGGCCTT CCAGCGACTG CTCTGCTGCG	1200
CGCGCAGGGC TGCCCGCCGG	
CGCCACGCGA CCCACGGAGA CGGGCGCGC GCCTCGGGCT	1260
GTCTGGCCCG GCCCGGACCC	
CCGCCATCGC CGGGGCCGC CTCGGACGAC GACGACGACG	1320
ATGTCTCGG GGCCACGCC	
CCCGCGCGCC TGCTGGAGCC CTGGGCCGGC TGCAACGGCG	1380
GGGCGGCCGGC GGACAGCGAC	

TCGAGCCTGG ACGAGCCGTG CCGCCCCGGC TTCCGCCTCGG AATCCAAGGT GTAGGGCCCG	1440
GCGCGGGGCG CGGACTCCGG GCACGGCTTC CCAGGGGAAC GAGGAGATCT GTGTTTACTT	1500
AAGACCGATA GCAGGTGAAC TCGAAGCCCA CAATCCTCGT CTGAATCATC CGAGGCAAAG	1560
AGAAAAGCCA CGGACCGTTG CACAAAAGG AAAGTTGGG AAGGGATGGG AGAGTGGCTT	1620
GCTGATGTTG CTTGTTG	1637

## (2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 9:

## (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 477 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzel
- (D) TOPOLOGIE: linear

## (ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

## (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 9:

Met Gly Ala Gly Val Leu Val Leu Gly Ala Ser Glu Pro Gly Asn Leu			
1	5	10	15

Ser Ser Ala Ala Pro Leu Pro Asp Gly Ala Ala Thr Ala Ala Arg Leu		
20	25	30

Leu Val Pro Ala Ser Pro Pro Ala Ser Leu Leu Pro Pro Ala Ser Glu		
35	40	45

Gly Pro Glu Pro Leu Ser Gln Gln Trp Thr Ser Gly Met Gly Leu Leu		
50	55	60

Met Ala Leu Ile Val Leu Leu Ile Val Ala Gly Asn Val Leu Val Ile			
65	70	75	80

Val Ala Ile Ala Lys Thr Pro Arg Leu Gln Thr Leu Thr Asn Leu Phe		
85	90	95

Ile Met Ser Leu Ala Ser Ala Asp Leu Val Met Gly Leu Leu Val Val		
100	105	110

Pro Phe Gly Ala Thr Ile Val Val Trp Gly Arg Trp Glu Tyr Gly Ser		
115	120	125

Phe Phe Cys Glu Leu Trp Thr Ser Val Asp Val Leu Cys Val Thr Ala		
130	135	140

Ser Ile Glu Thr Leu Cys Val Ile Ala Leu Asp Arg Tyr Leu Ala Ile			
145	150	155	160

Thr Ser Pro Phe Arg Tyr Gln Ser Leu Leu Thr Arg Ala Arg Ala Arg  
165 170 175

Gly Leu Val Cys Thr Val Trp Ala Ile Ser Ala Leu Val Ser Phe Leu  
180 185 190

Pro Ile Leu Met His Trp Trp Arg Ala Glu Ser Asp Glu Ala Arg Arg  
195 200 205

Cys Tyr Asn Asp Pro Lys Cys Cys Asp Phe Val Thr Asn Arg Ala Tyr  
210 215 220

Ala Ile Ala Ser Ser Val Val Ser Phe Tyr Val Pro Leu Cys Ile Met  
225 230 235 240

Ala Phe Val Tyr Leu Arg Val Phe Arg Glu Ala Gln Lys Gln Val Lys  
245 250 255

Lys Ile Asp Ser Cys Glu Arg Arg Phe Leu Gly Gly Pro Ala Arg Pro  
260 265 270

Pro Ser Pro Ser Pro Val Pro Ala Pro Ala Pro Pro Pro Gly  
275 280 285

Pro Pro Arg Pro Ala Ala Ala Ala Thr Ala Pro Leu Ala Asn Gly  
290 295 300

Arg Ala Gly Lys Arg Arg Pro Ser Arg Leu Val Ala Leu Arg Glu Gln  
305 310 315 320

Lys Ala Leu Lys Thr Leu Gly Ile Ile Met Gly Val Phe Thr Leu Cys  
325 330 335

Trp Leu Pro Phe Phe Leu Ala Asn Val Val Lys Ala Phe His Arg Glu  
340 345 350

Leu Val Pro Asp Arg Leu Phe Val Phe Phe Asn Trp Leu Gly Tyr Ala  
355 360 365

Asn Ser Ala Phe Asn Pro Ile Ile Tyr Cys Arg Ser Pro Asp Phe Arg  
370 375 380

Lys Ala Phe Gln Arg Leu Leu Cys Cys Ala Arg Arg Ala Ala Cys Arg  
385 390 395 400

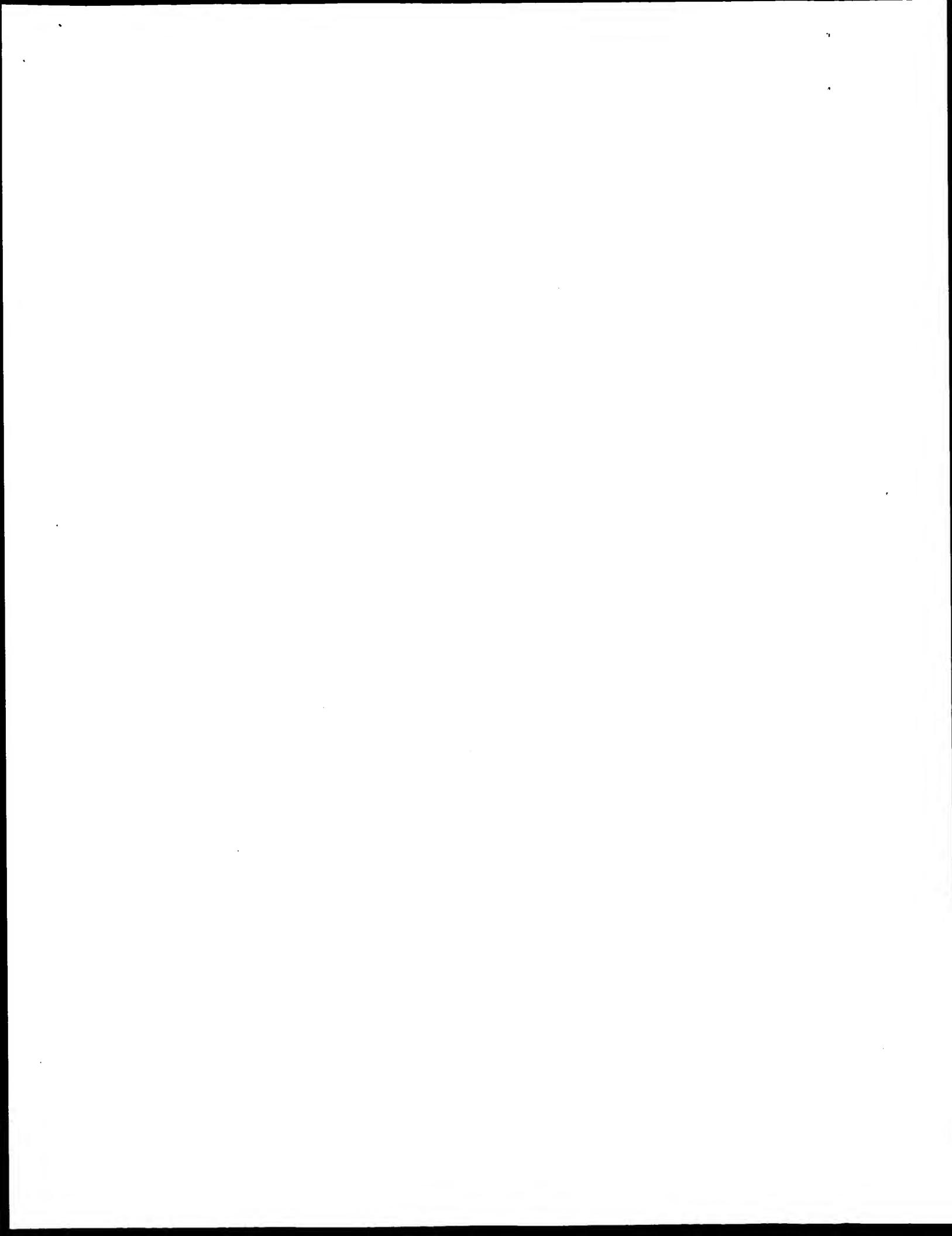
Arg Arg Ala Ala His Gly Asp Arg Pro Arg Ala Ser Gly Cys Leu Ala  
405 410 415

Arg Ala Gly Pro Pro Pro Ser Pro Gly Ala Ala Ser Asp Asp Asp Asp  
420 425 430

Asp Asp Val Val Gly Ala Thr Pro Pro Ala Arg Leu Leu Glu Pro Trp  
435 440 445

Ala Gly Cys Asn Gly Gly Ala Ala Ala Asp Ser Asp Ser Ser Leu Asp  
450 455 460

Glu Pro Cys Arg Pro Gly Phe Ala Ser Glu Ser Lys Val  
465 470 475



(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
15. Februar 2001 (15.02.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/11039 A3**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C07K 14/705, C12N 15/12, C12Q 1/68

(74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; Robert-Rössle-Strasse 10,  
D-13125 Berlin (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/02648

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT,  
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU,  
CZ, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR,  
HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR,  
LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ,  
NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM,  
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(22) Internationales Anmeldedatum:  
4. August 2000 (04.08.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
199 38 390.1 5. August 1999 (05.08.1999) DE

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN [DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10,  
D-13125 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): WALLUKAT, Gerd [DE/DE]; Wolkensteinstrasse 4, D-13129 Berlin (DE).  
PODLOWSKI, Svenja [DE/DE]; Wilhelmstrasse 31,  
D-15831 Mahlow (DE). WENZEL, Katrin [DE/DE];  
Fröbelweg 23, D-16321 Schönow (DE). MÜLLER,  
Johannes [DE/DE]; Güntzelstrasse 63, D-10717 Berlin  
(DE).

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH,  
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),  
europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI,  
FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent  
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE,  
SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen  
Recherchenberichts: 30. August 2001

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen  
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on  
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe  
der PCT-Gazette verwiesen.

WO 01/11039 A3

(54) Title: NEW SEQUENCE VARIANTS OF THE HUMAN 1-ADRENORECEPTOR GENE AND USE THEREOF

(54) Bezeichnung: SEQUENZVARIANTEN DES MENSCHLICHEN 1-ADRENOZEPTORGENS UND IHRE VERWENDUNG

(57) Abstract: The invention relates to new sequence variants of the human  $\beta$ 1-adrenoreceptor gene and to the use of polymorphisms in the human  $\beta$ 1-adrenoreceptor gene for diagnosing cardiomyopathies.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft neue Sequenzvarianten des menschlichen  $\beta$ 1-Adrenozeptorgens und die Verwendung von Polymorphismen im menschlichen  $\beta$ 1-Adrenozeptor zur Diagnose von Cardiomyopathien.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inten. Application No.

PCT/DE 00/02648

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 C07K14/705 C12N15/12 C12Q1/68		
<p>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</p>		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> <p>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)</p> <p>IPC 7 C07K C12N C12Q</p>		
<p>Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched</p>		
<p>Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)</p> <p>WPI Data, EPO-Internal, BIOSIS, MEDLINE</p>		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>TESSON ET AL: "Characterization of a unique genetic variant in the beta-1-adrenoceptor gene and evaluation of its role in idiopathic dilated cardiomyopathy"  <i>J MOL CELL CARDIOL</i>, vol. 31, May 1999 (1999-05), pages 1025-1032, XP002163859      page 1026 (Introduction); pages 1029-30 (Discussion)</p> <p style="text-align: center;">— -/-</p>	1-22
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
<p>* Special categories of cited documents :</p> <p>*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>*E* earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>*L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>		
<p>*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>*&amp;* document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
29 March 2001		12/04/2001
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Korsner, S-E

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Interinal Application No  
PCT/DE 00/02648

**C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	MAQBOOL ET AL: "Common polymorphisms of beta-1-adrenoceptor: identification and rapid screening assay" THE LANCET, vol. 353, March 1999 (1999-03), page 897 XP002163860 cited in the application abstract ----	1-22
Y	MASON ET AL.: "A gain-of-function polymorphism in a G-protein coupling domain of the human beta-1-adrenergic receptor" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 274, April 1999 (1999-04), pages 12670-12674, XP002163861 pages 12673-74 (Discussion) *	1-22
Y	WO 99 19512 A (UNIVERSITY OF CINCINNATTI) 22 April 1999 (1999-04-22) page 12 (table 1) ----	1-22
P,Y	WO 00 22166 A (EURONA MEDICAL) 20 April 2000 (2000-04-20) page 12, line 12 - page 13, line 29; page 25, line 10 - page 29, line 26 ----	1-22
P,X	PODLOWSKI ET AL.: J. MOL. MED., vol. 78, 17 February 2000 (2000-02-17), pages 87-93, XP000983030 the whole article; published on-line *	1-22

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/DE00/02648

The International Searching Authority found that this international application contains multiple inventions, as follows :

**1. Claims Nos. 1-22 in part**

Invention 1 : Sequence with at least the mutation 145 (A-<G)

« The claimed group of inventions, i.e. sequence variants, is only novel on account of the proviso – it does not, however, represent a uniform group which is linked by a novel and inventive concept (in relation to prior art). These other sequence variants are therefore to be considered as individual inventions ! »

Although the search was carried out for all specific sequences, an objection could be raised under PCT rule 13 during examination.

**2. Claims Nos 1-22 in part**

Inventions 2-7

**The inventions 2-7**

As above for sequences with mutations 175 (G->T), 1165 (G->C), 1195 (C->T), 1205 (A->G), 1210 (A->G) or 1252 (G->C).

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/DE00/02648

Continuation of box no. 1.2  
Claims Nos. 1-3, 9, 13-21 in part

Claims Nos. 1-3, 9, 13-21 relate to a disproportionately large number of possible sequence variants whereby only a small proportion thereof are supported by the description according to the terms of PCT Article 6 and/or can be considered disclosed under the terms of PCT Article 5. In the present case, the patent claims lack the appropriate support and the patent application lacks the required disclosure to such an extent that a meaningful search encompassing the entire scope of protection sought seems impossible. For this reason, the search was directed at parts of the claims which appear to be supported and disclosed according to the above-mentioned terms, i.e. the sequences fully or partially containing base exchanges A->G (position 145), G->T (175), G->C (1165), C->T (1195), A->G (1210), C->G (1252)

The applicant is reminded that claims or parts of claims relating to inventions in respect of which no search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). The EPO, in its capacity as the authority entrusted with the internal preliminary examination, does not as a general rule conduct a preliminary examination of subject matter for which no search report is available. This also applies to the case where the patent claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or to the case where the applicant provides new patent claims pursuant to the procedure mentioned in PCT Chapter II.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int'l. Appl. No.

PCT/DE 00/02648

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 9919512 A	22-04-1999	AU 9690498 A		03-05-1999
		EP 1021561 A		26-07-2000
WO 0022166 A	20-04-2000	AU 6116399 A		01-05-2000

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 00/02648

**A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
IPK 7 C07K14/705 C12N15/12 C12Q1/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07K C12N C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

WPI Data, EPO-Internal, BIOSIS, MEDLINE

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	<p>TESSON ET AL: "Characterization of a unique genetic variant in the beta-1-adrenoceptor gene and evaluation of its role in idiopathic dilated cardiomyopathy"            J MOL CELL CARDIOL,            Bd. 31, Mai 1999 (1999-05), Seiten            1025-1032, XP002163859            * Seite 1026 (Introduction); Seiten            1029-30 (Discussion)*            ----            -/-</p>	1-22

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

- \* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- \*'A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- \*'E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- \*'L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweiteilhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- \*'O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- \*'P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- \*'T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- \*'X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- \*'Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- \*'8\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

29. März 2001

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

12/04/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Korsner, S-E

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/DE 00/02648

**C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	MAQBOOL ET AL: "Common polymorphisms of beta-1-adrenoceptor: identification and rapid screening assay" THE LANCET, Bd. 353, März 1999 (1999-03), Seite 897 XP002163860 in der Anmeldung erwähnt * Zusammenfassung * ---	1-22
Y	MASON ET AL.: "A gain-of-function polymorphism in a G-protein coupling domain of the human beta-1-adrenergic receptor" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, Bd. 274, April 1999 (1999-04), Seiten 12670-12674, XP002163861 * Seiten 12673-74 (Discussion) * ---	1-22
Y	WO 99 19512 A (UNIVERSITY OF CINCINNATTI) 22. April 1999 (1999-04-22) * Seite 12 (Tabelle 1) * ---	1-22
P,Y	WO 00 22166 A (EURONA MEDICAL) 20. April 2000 (2000-04-20) * Seite 12, Zeile 12 - Seite 13, Zeile 29; Seite 25, Zeile 10 - Seite 29, Zeile 26 * ---	1-22
P,X	PODLOWSKI ET AL.: J. MOL. MED., Bd. 78, 17. Februar 2000 (2000-02-17), Seiten 87-93, XP000983030 * Der ganze Artikel; Veröffentlichung on-line * ----	1-22

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-22 teilweise

Erfindung 1: Sequenz mit mindestens der Mutation 145 (A->G)

'Die beanspruchte Gruppe von Erfindungen, d.h. Sequenzvarianten, ist nur wegen der Vorbehaltsklausel neu - sie stellt aber nicht eine einheitliche Gruppe dar, die durch eine neue und erfinderische Idee (gegenüber dem Stande der Technik) verbunden ist.

Diese weitere Sequenzvarianten sind somit als Einzelerfindungen zu betrachten.

Obwohl die Recherche für alle spezifische Sequenzen durchgeführt wurde, könnte ein Einwand unter Regel 13 PCT während der Prüfung erhoben werden. !

2. Ansprüche: 1-22 teilweise

Die Erfindungen 2-7:

Wie oben, für die Sequenzen mit den Mutationen 175 (G->T), 1165 (G->C), 1195 (C->T), 1205 (A->G), 1210 (A->G) bzw. 1252 (G->C).

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

## Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 1-3, 9, 13-21 teilweise

Die geltenden Patentansprüche 1-3, 9, 13-21 beziehen sich auf eine unverhältnismäßig große Zahl möglicher Sequenzvarianten von denen sich nur ein kleiner Anteil im Sinne von Art. 6 PCT auf die Beschreibung stützen und/oder als im Sinne von Art. 5 PCT in der Patentanmeldung offenbart gelten kann. Im vorliegenden Fall fehlt den Patentansprüchen die entsprechende Stütze und fehlt der Patentanmeldung die nötige Offenbarung in einem solchen Maße, daß eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich erscheint. Daher wurde die Recherche auf die Teile der Patentansprüche gerichtet, welche im o.a. Sinne als gestützt und offenbart erscheinen, nämlich die Sequenzen, die ganz oder teilweise die Basenaustausche A->G (Position 145), G->T (175), G->C (1165), C->T (1195), A->G (1205), A->G (1210), C->G (1252) enthalten.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentanprüche vorlegt.

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 00/02648

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9919512 A	22-04-1999	AU	9690498 A	03-05-1999
		EP	1021561 A	26-07-2000
WO 0022166 A	20-04-2000	AU	6116399 A	01-05-2000

